

¹ Şule BULUR

² Süber DİKİCİ

³ Şerif DEMİR

³ Seyit ANKARALI

¹ Selçuk Üniversitesi Meram
Tıp Fakültesi, Fizyoloji
Anabilim Dalı

² Düzce Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Nöroloji Anabilim
Dalı

³ Düzce Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Fizyoloji Anabilim
Dalı

Submitted/Başvuru tarihi:
29 09 2011
Accepted/Kabul tarihi:
09 10 2011
Registration/Kayıt no:
11 10 161

Corresponding Address
/Yazışma Adresi:

Dr. Şule BULUR
Selçuk Üniversitesi Meram Tıp
Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
KONYA, 42000

E-mail: suleinc@gmail.com

© 2012 Düzce Medical Journal
e-ISSN 1307- 671X
www.tipdergi.duzce.edu.tr
duzcetipdergisi@duzce.edu.tr

**Eritropoetinin Santral Sinir Sistemindeki
Nöroprotektif Etkileri**

**The Neuroprotective Effects Of Eritropoietin In The Central
Nervous System**

ÖZET

Eritropoietin (Epo), esas olarak eritroid progenitör hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması ve devamlılığını destekleyerek eritroid hücre üretimini uyarır. Ancak Epo'nun sadece hematopoetik sistemde etki etmediği artık yaygın olarak bilinmektedir. Eritropoietin santral sinir sisteminde nöroprotektif etkili, nörogenizde baskın bir role sahip ve nörotrofik bir faktör olarak etki göstermektedir. Çok çeşitli deneysel çalışmalar Epo ve reseptörünün sinir sisteminde varlığını ortaya koymuştur. Ayrıca Epo, hücre kültürü ve sinir sistemi bozukluklarının oluşturulduğu hayvan modellerinde belirgin nöroprotektif etki göstermektedir. Eritropoietinin nöroprotektif etkisinin keşfi yeni tedavi yollarının açığa çıkmasını sağlamıştır. Biz bu derlemede, Epo'nun mevcut nöroprotektif özellikleri hakkındaki bilgileri özetlemekteyiz.

Anahtar kelimeler: Eritropoietin, nöroprotektif etki, santral sinir sistemi.

ABSTRACT

Erythropoietin (Epo) acts primarily to stimulate erythroid cell production by supporting the survival, proliferation and differentiation of erythroid progenitor cells but It is now widely known that erythropoietin does not only affect the haematopoietic system. Erythropoietin has a dominant role for neuroprotection, neurogenesis, and acting as a neurotrophic factor in the central nervous system. A wide variety of experimental studies have shown that Epo and its receptor are expressed in the nervous system also Epo exerts remarkable neuroprotection in cell culture and animal models of nervous system disorders. The discovery that erythropoietin exerts neuroprotective properties has opened new therapeutic avenues. In this review, we summarize the current knowledge on the neuroprotective properties of Epo.

Key Words: Erythropoietin, neuroprotection, central nervous system.

Eritropoetinin yapısı

Eritropoietin (Epo) esas olarak böbrekler tarafından üretilen, alyuvarların üretimini düzenleyen glikoprotein yapısında bir hormondur. Epo sınıf 1 sitokin ailesinin bir üyesi olup, 4 α -heliks bağı içeren, % 40 karbonhidrat yapıdan oluşan globüler bir glikopeptiddir. Moleküler ağırlığı 30.4 kDa'dır. İnsanlarda Epo mRNA 193 aminoasitlik bir protein kodlar, ancak matür protein, 165 amino asitlik bir yapıdan oluşur (1). Epo kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden proeritroblastların üretimini uyarmaktadır. Bu üretim düşük oksijen basıncında kaldığı sürece ya da yeteri kadar eritrosit yapıp, dokulara yeterli miktarda oksijen taşınmaya kadar devam eder. Ayrıca bir kez proeritroblastlar oluşunca Epo, bu hücrelerin farklı eritroblastik evreleri normalden daha hızlı geçmelerine neden olarak, yeni hücrelerin üretimini artırır. Epo azalmış oksijen koşullarında alyuvar üretimini uyararak esas faktördür (2).

Eritropoetinin sentez yeri

Eritropoietin fetal dönemde esas olarak karaciğer hepatositleri tarafından üretilir. Doğumdan sonra, dolaşımdaki miktarının büyük kısmı böbreklerin korteksinde yerleşmiş peritübüler fibroblast benzeri hücreler tarafından üretilir (3). Karaciğerde Epo salınımından sorumlu esas hücreler hepatositlerdir, ancak karaciğer sinizoidal boşluklarında yerleşik ito hücrelerinden de üretildiği bilinmektedir (4). Erişkinlerde, karaciğer parankiminde, dalakta, akciğerlerde, testislerde ve beyinde az miktar Epo mRNA saptanmıştır (3). İnsan embriyosu beyininden ve erişkin hipokampusünden yapılan biyopsilerde amigdala, temporal korteks ve çeşitli beyin bölgelerinde varlığı gösterilmiştir. Ayrıca astrositler, nöronlar, kadın genital sistemi, meme bezleri,

plesental trofoblastlar, kemik iliği makrofajları ve eritroid pregenitör hücrelerinde tespit edilmiştir. Epo'nun nöronal varlığı ilk PC12 sıçan feokromositoma ve SN6 septal kolinerjik hücrelerde tanımlanmıştır (5). Epo salınımının olduğu bilinen dokular Tablo 1'de gösterilmiştir.

Eritropoetin salınımının düzenlenmesi

Epo'nun salınımında endokrin veya hormonal sistem, lokal etki gösteren parakrin sistem, otokrin sistem olmak üzere üç farklı sistem ortaya çıkmaktadır (7).

Eritropoetin salınımı hipoksi, anemi ve oksijen duyarlılık yolları ile uyarılır. Hipoksi Epo gen transkripsiyonunda bir artış meydana getirir. Hepatik Nükleer Faktör 4 ve Hipoksik İndüklenebilir Faktor (HİF) Epo için spesifik transkripsiyonel uyarıya neden olur (8).

Beyinde, Epo sentezi çeşitli mekanizmalarla düzenlenir. Hem SSS hem de böbreklerde oksijen konsantrasyonundaki azalmaya cevap olarak HİF'in hipoksiye bağlı aktivasyonu Epo salınımında artışa neden olur (9). Hipoglisemi, güçlü nöronal depolarizasyon, artmış nöronal aktivite gibi metabolik bozukluklarda, mitokondriyal reaktif oksijen moleküllerinin artışına bağlı olarak HİF'in uyarılmasıyla serebral Epo üretiminde bir artış gözlenir. Bununla beraber astrositlerde üretimi insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü aracılığıyla doza bağımlı bir şekilde düzenlenir. İnterlökin-1 β , interlökin-6 ve tümör nekrozis faktör- α gibi proinflamatuvar sitokinler nöronlarda, astrositlerde ve mikroglia hücrelerinde Epo salınımını etkilemektedir (10).

Tablo 1. Epo salınımının olduğu bilinen dokular.

Epo üretimi	Ekspresyon yerleri
Böbrek	Peritübüler hücreler
Karaciğer	Kupfer hücreleri ve hepatositler
Kemik iliği	Makrofajlar, eritroid progenitörleri
Dalak	
Üreme organları	
Kadın üreme organları	Uterus, tuba uterina, plasenta, overler
Testis	Sertoli ve peritübüler myeloid hücreler
Santral sinir sistemi	Nöronlar, astrositler, mikrovasküler endotel hücreleri

Tablo 2. Epo'nun nöroprotektif etkisi için deneysel kanıtlar.

	Deneysel Modeller		Epo'nun Etkisi
	Deneysel koşul	Kullanılan hayvan	
Nöron	Beyin iskemisi	Sıçan, fare, gerbil	İskemiyeye tolerans ve nöronal sağ kalımda artış, öğrenme kapasitesinde iyileşme
	Retinal iskemisi	Sıçan, fare	Apopitozu azaltma
	Spinal hasar	Sıçan	Apopitozu ve inflamasyonu azaltma, fonksiyonel iyileşme
	Serebral kanama	Tavşan	Kan akımında ve nöronal fonksiyonlarda iyileşme
	Periferik sinir	Sıçan	Apopitozu azaltma ve onarımda artış
	Reaktif oksijen radikalleri	Sıçan	Reaktif oksijen moleküllerinin üretimini, apopitozu ve kaspaz aktivitesini azaltma
	Glutamat toksisitesi	Sıçan	Glutamat salınımını azaltma, nöronal sağ kalımda artış
	Gelişim ve matürasyon	Fare	Apopitozu azaltma, nöronal pregenitörlerin sayısında artış
Mikroglia	Beyin inflamasyonu	Sıçan	İnflamasyonu ve sitokin üretimini azaltma
Damarlar	Oksidatif stres	Sıçan	Reaktif oksijen moleküllerinin üretimini, apopitozu ve kaspaz aktivitesini azaltma, endotel üzerine koruyucu etki

Eritropoetin reseptörü

Epo reseptörü 66-78 kD arasında, sitokin reseptör süper ailesine ait bir yapıdır. EpoR geni D'Andrea ve arkadaşları tarafından 1989 yılında fare eritrolösemi hücrelerinden klonlanmıştır (11). Beyin, retina, kalp, böbrek, düz kas hücreleri, myoblast ve vasküler endotel gibi çeşitli yapılarda, nöronal hücreler üzerinde EpoR varlığına rastlanmıştır (12). EpoR'ler sıçanların kortikal nöronlarında yapılan kültürlerde, hipokampal nöronlarda sitokimyasal immüno boyama ve reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu metodu kullanılarak tespit edilmiştir. Santral sinir sisteminde majör Epo bağlanma alanları hipokampus, kapsula interna, korteks ve orta beyin alanı olarak gözlemlenmiştir (5).

Eritropoetin Nöroprotektif Etkileri

Son yıllarda Epo'nun SSS üzerinde nöroprotektif etkisi olduğuna dair çeşitli yayınlar mevcuttur. Nöroprotektif mekanizması ile ilgili sorular henüz tam olarak cevaplanamamıştır. Reaktif oksijen molekülleri ve glutamat gibi doku hasarlayıcı moleküllerin üretimini sınırlandırarak, vazospazmı geri döndürerek, anjiyogenezi stimüle ederek, apoptozu azaltarak, inflamasyonu düzenleyerek ve kök hücre iyileşmesini sağlayarak etki ettiği bilinmektedir. Epo'nun, nöronlar üzerine koruyucu etkisinin bu mekanizmaların bir kombinasyonu ile olduğu düşünülmektedir (5). Epo'nun nöroprotektif etkisi için deneysel kanıtlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Epo, EpoR üzerinde JAK-2'nin tirozin fosforilasyonunu indükleyerek bir dizi sinyal yolağının uyarılmasına neden olur. Bu sinyal mekanizmalarının beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve vasküler endotelial büyüme faktörü gibi bazı büyüme faktörlerinin sitoprotektif etkileri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (14).

Epo, Ca^{++} akışı, membran depolarizasyonu ve nörotransmitter sentezi gibi sinir hücresinin çeşitli fonksiyonlarını düzenler. Hipokampal kesit kültürlerinde iskemi süresince ve sonrasında Epo'nun sinaptik transmisyonu arttırdığı gösterilmiştir. Epo'nun çeşitli nörotransmitterlerin stimülasyon veya inhibisyonuna neden olarak sinaptik plastisitede rol oynadığı düşünülmektedir. (14,15).

Antiapoptotik etki

Epo'nun antiapoptotik etkisini apoptotik süreçte rol oynayan genlerin ekspresyonunun farklı düzenlenmesi yoluyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Epo anoksi ve serbest radikaller ile meydana gelmiş nöronal hasarda, hücre ölümü ile ilişkili bir seri hücreyel yolağın uyarılmasını düzenlemektedir (16). Dışardan verilen Epo'nun beyinde iskemik alanları, endotelial koruma sağlayarak ve nöronal hücrelerin apoptotik ölümünü engelleyerek azalttığı tespit edilmiştir. Nöronal EpoR aktivasyonu, N-metil-D-aspartat indüksiyonu veya JAK-2 ve NFκB arasındaki etkileşimin tetiklenmesiyle açığa çıkan NO aracılığıyla olan apoptozdan koruma sağlar (5).

Antioksidatif etki

NO aracılı salınan serbest radikallerin baskılanması veya bunların toksik etkilerinin antagonize edilmesi Epo'nun nöroprotektif etkilerinin temelini oluşturmaktadır. Eritropoetin'in nöronlarda süperoksit dismutaz, glutatyon

peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı düşünülmektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonu inhibisyonuna neden olarak oksidatif hasara karşı koruyucu etki göstermesi antioksidan özelliğini desteklemektedir (14).

Anjiogenik etki

Eritropoetin ile aktive olan neovaskülarizasyonun uyarılması bir diğer potansiyel koruma mekanizmasıdır (5). Eritropoetin mitozu uyarır ve endotelial ve mezengial hücrelerin aktivasyon ve farklılaşmasına neden olur. Yeni damar formasyonu ile Epo hedef hücrenin oksijen alımını artırır. (17). Eritropoetin beyinde iskemik alanın sınır bölgesinde kan akımını ve doku oksijenizasyonunu artırır. Endotel hücrelerinde anoksiye bağlı vasküler hasarı engeller. Spesifik endotelial reseptörlerine bağlanarak direkt olarak serebral arterler üzerine etki ettiği böylece serebrovasküler tonüsün kontrolünde rolü olduğu düşünülmektedir (18). Eritropoetin insan erişkin miyokard endotel hücreleri üzerine vasküler endotelial growth faktör'e (VEGF) denk anjiogenik potansiyele sahiptir. Ayrıca fare beyin endotel hücrelerinde kapiller damar sayısını arttırdığı tespit edilmiştir (19).

Nörotrofik etki

Eritropoetin molekülü içinde 17 amino asitlik bir spesifik nörotrofik dizi olduğu tespit edilmiştir. Nörotrofik etki Epo'nun uzun latensli etkilerindendir (14).

Diyabetik nöropatili hayvanlarda ve sinir kesisi sonrasında Epo verilmesinin periferik sinir liflerinin aksonlarının yenilenmesinde belirgin etkisi olduğu saptanmıştır (20). Kültürlerde Epo'nun nöronal büyüme ve kesik sinir yolları üzerine nörotrofik etkisi olduğu gözlemlenmiştir (9, 21).

Nörojenik etki

Eritropoetin'in uzun süreli etki mekanizmalarından bir diğeri nörojenik düzenlemesidir. Eritropoetin'in nöronal kök hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşmasının kontrolünde rol sahibi olabileceği düşünülmektedir. Eritropoetin reseptörü erişkin subventriküler zonun yanı sıra nöroenez sırasında embriyonik germinal zonda da tespit edilmiştir (14). Eritropoetin erken gelişim sırasında genel bir morfojen ve nöroenezisin uyarıcısıdır. Erişkinin lateral ventrikülünün içine Epo infüzyonu uygulanarak yapılan bir çalışmada subventriküler zonda nöronal kök hücre sayısında bir azalış, olfaktor bulbus inter nöronlarında ve olfaktor bulbusa yeni oluşturulan hücre göçünde bir artış gözlemlenmiştir. İn vitro ve in vivo çalışmalarda Epo kullanımıyla beyin kaynaklı nörotrofik faktör seviyelerinde bir artış, nörolojik fonksiyonlarda bir iyileşme saptanmıştır. Diğer bir çalışmada EpoR kusuru olan farelerde nöronal pregenitor hücrelerinde azalma, nöroenezde gerileme ve nöronal apoptozda bir artış tespit edilmiştir. Sıçanlarda oluşturulan bir travmatik beyin yaralanması modelinde, Epo verilmesiyle travmadan 14 gün sonra yeni oluşan nöron sayısında bir artış ve boyutsal hafızada iyileşme görülmüştür (22). Eritropoetin sıçan oligodendrositlerinde farklılaşma ve olgunlaşmaya neden olur, normal ve hasarlı erişkin santral sinir sisteminde miyelin onarımını sağlar. Yenidoğan ve erişkin hayvanlarda nöronal kök hücrelerinin farklılaşmasında önemli bir faktördür. Aynı zamanda Epo yaralanma sonrası iyileşme

sürecinde rejenere nöronların göçünü düzenler (23).

Antiinflatuar etki

Son yıllardaki çalışmalarda Epo'nun antiinflatuar etkileri olduğu tespit edilmiştir. Eritropoetin'in nöronal kültür çalışmalarında ve bir deneysel otoimmün ensefalomiyelit modelinde proinflatuar sitokin üretimini ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Primer olarak kaspaz 1'in regülasyonu ile mikroglial aktivasyon için gerekli nöronal apoptotik membran fosfolipid serin kısmını modüle eder. Böylece serebral mikroglial aktivasyonun inhibisyonu ile dış koruma sağlar ve nöronal fagositozdan korunmak için mikroglial fosfolipid serin reseptör ekspresyonunu baskılar (14).

Sonuç

Epo'nun SSS'de nasıl bir rol oynadığının kesin olarak bilinebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. İnsanlarda SSS'de EPO'nun patofizyolojik olaylardaki rolünün açıklığa kavuşturulması, nöroprotektif etki mekanizmalarının aydınlatılması ve etki nedenlerinin ortaya konmasıyla klinikte kullanıma girmesi hızlanacaktır.

KAYNAKLAR

- Farrell F, Lee A. The erythropoietin receptor and its expression in tumor cells and other tissues. *Oncologist*. 2004; 9 Suppl 5:18-30.
- Fisher JW. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med* (Maywood). 2003 Jan; 228(1):1-1.
- Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin. *Intern Med*. 2004 Aug; 43(8):649-59.
- Lacombe C, Mayeux P. The molecular biology of erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant*. 1999; 14 Suppl 2:22-8.
- Genc S, Koroglu TF, Genc K. Erythropoietin and the nervous system.. *Brain Res*. 2004 Mar 12; 1000(1-2):19-31.
- Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K. Hematopoietic factor erythropoietin fosters neuroprotection through novel signal transduction cascades. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002 May; 22(5):503-14.
- Lappin T. The cellular biology of erythropoietin receptors. *Oncologist*. 2003; 8 Suppl 1:15-8.
- Noguchi CT, Asavaritikrai P, Teng R, Jia Y. Role of erythropoietin in the brain. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007 Nov; 64(2):159-71. Epub 2007 May 4.
- Brines M, Cerami A. Emerging biological roles for erythropoietin in the nervous system.. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Jun; 6(6):484-94.
- Nagai A, Nakagawa E, Choi HB, Hatori K, Kobayashi S, Kim SU. Erythropoietin and erythropoietin receptors in human CNS neurons, astrocytes, microglia and oligodendrocytes grown in culture. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001 Apr; 60(4):386-92.
- Yoshimura A, Misawa H. Curr. Physiology and function of the erythropoietin receptor. *Opin Hematol*. 1998 May; 5(3):171-6.
- Arcasoy MO. The non-haematopoietic biological effects of erythropoietin. *Br J Haematol*. 2008 Apr; 141(1):14-31.
- Cariou A, André S, Claessens YE. Extra-hematopoietic effects of erythropoietin. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2008 Sep; 8(3):173-8.
- Genc S, Köroğlu TF, Genc K. Erythropoietin as a novel neuroprotectant. *Restor Neurol Neurosci*. 2004; 22(2):105-19.
- Kumral A, Gonenc S, Acikgoz O, Sonmez A, Genc K, Yilmaz O, Gokmen N, Duman N, Ozkan H. Erythropoietin increases glutathione peroxidase enzyme activity and decreases lipid peroxidation levels in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate*. 2005; 87(1):15-8. Epub 2004 Aug 27.
- Ghezzi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ*. 2004 Jul; 11 Suppl 1:S37-44.
- Ribatti D, Vacca A, Roccaro AM, Crivellato E, Presta M. Erythropoietin as an angiogenic factor. *Eur J Clin Invest*. 2003 Oct; 33(10):891-6.
- Kertesz N, Wu J, Chen TH, Sucov HM, Wu H. The role of erythropoietin in regulating angiogenesis. *Dev Biol*. 2004 Dec 1; 276(1):101-10.
- Wang L, Zhang Z, Wang Y, Zhang R, Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke*. 2004 Jul; 35(7):1732-7. Epub 2004 Jun 3.
- Campana WM, Myers RR. Exogenous erythropoietin protects against dorsal root ganglion apoptosis and pain following peripheral nerve injury. *Eur J Neurosci*. 2003 Sep; 18(6):1497-506.
- Ehrenreich H, Degner D, Meller J, Brines M, Béhé M, Hasselblatt M, Woldt H, Falkai P, Knerlich F, Jacob S, von Ahsen N, Maier W, Brück W, Rüther E, Cerami A, Becker W, Sirén AL. Erythropoietin: a candidate compound for neuroprotection in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2004 Jan; 9(1):42-54.
- Lu GW, Yu S, Li RH, Cui XY, Gao CY. Hypoxic preconditioning: a novel intrinsic cytoprotective strategy. *Mol Neurobiol*. 2005; 31(1-3):255-71.
- Sugawa M, Sakurai Y, Ishikawa-Ieda Y, Suzuki H, Asou H. Effects of erythropoietin on glial cell development; oligodendrocyte maturation and astrocyte proliferation. *Neurosci Res*. 2002 Dec; 44(4):391-403.